



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ESTUDIO FAUNÍSTICO DE LAS AVISPAS PARASITOIDES
DE LA SUBFAMILIA MICROGASTRINAE
(HYMENOPTERA:BRACONIDAE) EN LA ESTACIÓN DE
BIOLOGÍA DE CHAMELA, JALISCO, MÉXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGA

PRESENTA:

SOFÍA REBECA FERNÁNDEZ FLORES

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN



2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ESTUDIO FAUNÍSTICO DE LAS AVISPAS PARASITOIDES
DE LA SUBFAMILIA MICROGASTRINAE
(HYMENOPTERA:BRACONIDAE) EN LA ESTACIÓN DE
BIOLOGÍA DE CHAMELA, JALISCO, MÉXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGA

PRESENTA:

SOFÍA REBECA FERNÁNDEZ FLORES

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN

2016



Hoja de datos del Jurado

1.- Datos de la alumna

Fernández
Flores
Sofía Rebeca
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
305282532

2.- Datos del tutor

Dr.
Alejandro
Zaldívar
Riverón

3.- Datos del sinodal 1

Dr.
Jorge Enrique
Llorente
Bousquets

4.- Datos del sinodal 2

Dr.
Ismael Alejandro
Hinojosa
Díaz

5.- Datos del sinodal 3

Dra.
América Nitxin
Castañeda
Sortibrán

6.- Datos del sinodal 4

M. en C.
Marysol
Trujano
Ortega

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Alejandro Zaldívar Riverón por la asesoría en la elaboración de este trabajo y la donación de la recolecta. Por su eterno apoyo y confianza.

Al Dr. José Leonardo Fernández Triana, por su ayuda e instrucción para la determinación de las especies.

A Juan José Martínez por colaborar en el presente estudio.

A Andrés Reséndiz, Vladimir de Jesús Bonilla, Ana Rodríguez, Sara Ceccarelli, Hans Clebsch y Valeria Salinas por su asistencia en la recolecta de especímenes en el campo.

A Susana Guzmán y a la Unidad de Informática para la Diversidad (UNIBIO), Instituto de Biología, UNAM, que permitieron la toma de fotografías de los ejemplares.

Este estudio fue realizado con el apoyo de subvenciones concedidas por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, México); Proyecto SEP Ciencia Básica, convocatoria 2008; Red Temática del Código de Barras de la Vida.

Agradecimientos personales

A mi madre Rebeca y mi padre Eduardo por despertar en mí desde pequeña, la curiosidad y el respeto por la naturaleza. Por apoyarme en cada paso del camino y por aguantar todas mis locuras. Les debo todo lo que soy.

A mi hermano por salvarme de mi misma sin siquiera saberlo. Por ser un compañero excelente de aventuras y ficciones.

A Elías, mi esposo, por ayudarme a alcanzar mis sueños y darme alas para conquistar el mundo a su lado. Por nunca dejarme caer.

A mi otra muleta, la familia Palomo Flores, en especial a Temy y Nelson. Por haberme contagiado siempre su espíritu de libertad.

A mis abuelos Lupita y Genaro por su amor incondicional.

A mis abuelos Eduardo y Judy, por todo su apoyo y orientación para que este día llegara y yo no colapsara en el intento.

A los tíos, suegros y familia por elección: soy muy afortunada por tenerlos en mi vida. Gracias por todos los momentos llenos de música, poesía y sonrisas al óleo...

A mis amigos Sofía Murga, Aura Montemayor, Sandra Petrone, Verónica Ramos, Jorge Antonio Escajadillo, Tomás Franco, Irene Gaona, Alejandra Caso, José Luis Martínez, Karen Luna, Ilse Colín, Magali Ramírez y Miguel Colín. Gracias por acompañarme en los momentos más especiales de mi vida.

A las nuevas personas en mi vida: Samantha Sedeño, Diego Caballero, Armando Ortega, Joe Azpeytia, Bernabé Guerrero y Cid Guzmán. Son justo lo que necesitaba para vencer mis miedos.

A los ausentes: Amelia, Malena y Mario...

ÍNDICE

Resumen	4
Antecedentes	5
Justificación	23
Objetivos	24
Material y métodos	25
Resultados	29
Discusión	37
Conclusiones	41
Bibliografía citada	42
Apéndices	
Apéndice 1. Localidades de recolecta	49
Apéndice 2. Dendograma	55
Apéndice 3. Árbol ultramétrico	61

RESUMEN

La subfamilia Microgastrinae es probablemente una de las más diversas dentro de la familia Braconidae; su diversidad se encuentra representada por 2 000 especies descritas y se estima que podría haber de 5 000 a 10 000 especies no descritas. El presente estudio tiene como finalidad conocer la riqueza de especies pertenecientes a esta subfamilia en la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, Jalisco, empleando caracteres morfológicos y moleculares (fragmento del gen citocromo c oxidasa).

De los ejemplares recolectados en campo, se secuenciaron 551 muestras de tejido y se obtuvieron 238 haplotipos. Mediante el criterio del 2% de distancia genética y el método de coalescencia (GYMC), se delimitaron 100 y 112 especies respectivamente. Las especies delimitadas por los dos enfoques anteriores fueron congruentes con la identificación a nivel de morfoespecie en la mayoría de los casos. Diez unidades taxonómicas (MOTU's), recuperadas por el criterio de 2% de distancia genética, resultaron en 22 especies por el enfoque GYMC; al revisar la morfología de estas 22 especies se encontraron diferencias morfológicas en tres de estos MOTU's. Por lo tanto, se confirmaron 103 especies para la región de estudio pertenecientes a 13 géneros.

Debido a que de 33 de las especies delimitadas sólo se contó con ejemplares masculinos, su asignación genérica es tentativa. Los géneros *Fornicia*, *Dolichogenidea*, *Distatrix*, *Glyptapanteles* y *Pholetesor*, representan registros nuevos para el territorio mexicano, así como el registro para la especie *Diolcogaster sp.* (que forma parte del grupo de especies *Diolcogaster basimacula*). La región de Chamela comparte con Costa Rica cuatro especies y una especie con Canadá y Estados Unidos.

Se contribuyó a la base del proyecto Barcode Of Life Data Systems (BOLD), que actualmente cuenta con casi 25 000 registros de especies de microgastrinos pertenecientes a 75 países, así como a la Colección Nacional de Insectos del Instituto de Biología de la UNAM.

ANTECEDENTES

Arthropoda es el phylum más diverso y abundante cuyo estudio en relación con sus interacciones con el ecosistema y otros organismos es complejo (Nielsen, 2012). Este phylum agrupa a los miriápodos, crustáceos, arácnidos, trilobites e insectos (Brusca & Brusca, 2003). Insecta es a su vez el grupo más diverso y abundante de organismos en la Tierra, y su registro fósil data del Devónico (Grimaldi, 2003). Actualmente cuenta con 1.2 millones de especies descritas en 29 órdenes, sin embargo, se considera que el número de especies existentes sin describir puede multiplicarse (Hanson & Gauld, 2006). Los insectos se caracterizan por estar divididos en tres tagma (cabeza, tórax y abdomen), así como por presentar tres pares de patas torácicas, un par de antenas, y dos pares de alas (meso y metatorácicas), aunque las últimas pueden estar presentes, reducidas o ausentes (Choate, 2006).

Los insectos poseen una extraordinaria plasticidad fenotípica, lo que ha significado el éxito en sus procesos de especiación, así como en la colonización de un amplio espectro de ecosistemas, hábitats y nichos, pues sus funciones ecológicas son diversas (carnívoros, parásitos, carroñeros, fitófagos, frugívoros, coprófagos, fungívoros, parasitoides, entre otros) y han logrado establecer, con otros organismos, relaciones de mutualismo, comensalismo y parasitismo (Guzmán-Mendoza, 2010).

El orden Hymenoptera

Hymenoptera es uno de los cuatro órdenes hiperdiversos de la clase Insecta. Se encuentra conformado por alrededor de 120 000 especies descritas, las cuales presentan diversas formas de vida y hábitos (Zhi-Qiang Zhang, 2011). Se clasifican en dos subórdenes que separan a hormigas, abejas y avispas (Apocrita), de moscas sierra y avispas de la madera (Symphyta). Las especies de Apocrita presentan una estructura llamada propodeo, el cual separa la parte basal del abdomen –fusionada al tórax– como una constricción hacia el resto de los segmentos del abdomen. Por otro lado, las especies de Symphyta presentan el abdomen unido de forma gruesa y sus patas se asemejan a las de Lepidoptera (Nicholls, 2008).

Las especies parasitoides representan el 20% de los insectos; en el orden Hymenoptera, Apocrita concentra el 75% de especies parasitoides (Smith *et al.*, 2008). La superfamilia Ichneumonoidea cuenta con más de 30 mil especies y se compone de las familias Braconidae e Ichneumonidae (Wharton, 1998); la evidencia morfológica y molecular confirman su monofilia (Campos, 2001).

Las avispas de la familia Braconidae actualmente están representadas por poco más de 17,000 especies (Yu *et al.*, 2012) agrupadas en 36 subfamilias (Wharton, 1998; ver Cuadro 1). De estas subfamilias, las más diversas son Helconinae, Aphidiinae, Agathidinae, Rogadinae, Microgastrinae, Alysinae, Braconinae y Doryctinae (Hanson & Gauld, 2006). En México se registran 35 subfamilias (el 70% de la familia Braconidae), con un total de 318 géneros y 704 especies (Coronado-Blanco & Zaldívar-Riverón, 2014).

Cuadro 1. Subfamilias de la familia Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) a nivel mundial y el número de géneros reconocidos. Modificada de Hanson y Gauld (2006).

SUBFAMILIA	No. GÉNEROS
Adeliinae	2
Agathidinae	52
Alysinae	77
Aphidiinae	50
Apozyginae	1
Blacinae	13
Betylobraconinae	7
Braconinae	≈200
Cardiochilinae	16
Cenocoeliinae	5
Cheloninae	11
Dirrhopinae	1
Doryctinae	≈200
Euphorinae	34
Exothecinae	5
Gnamptodontinae	3
Helconinae	40
Homolobinae	5
Hormiinae	20
Ichneutinae	9
Macrocentrinae	10
Mendeseliinae	2
Mesostoinae	7
Meteorideinae	2
Meteorinae	2
Microgastrinae	54
Microtypinae	3
Miracinae	1
Opiinae	17
Orgilinae	9
Pambolinae	9
Rhysipolinae	3
Rhyssalinae	8
Rogadinae	53
Sigalphinae	8
Ypsistocerinae	3

La clasificación de las subfamilias de Braconidae ha sido tradicionalmente conflictiva. Este problema se debe a que varias subfamilias tienden a presentar convergencias evolutivas y escasos caracteres diagnósticos, lo que se ve incrementado por el escaso conocimiento de varios taxones en el Neotrópico, así como la falta de información biogeográfica y ecológica del grupo (Campos, 2001).

Los braconidos generalmente son parasitoides de larvas de otros órdenes de insectos (hemípteros, coleópteros, himenópteros, lepidópteros y dípteros), pueden ser endo o ectoparasitoides, y su hábito social es gregario o solitario (Wharton, 1998). Además, como estrategia de ataque contra su huésped, los braconidos pueden ser idiobiontes (generalmente ectoparasitoides de las subfamilias Hormininae, Braconinae y Doryctinae) o koinobiontes (endoparasitoides de las subfamilias Opiinae, Alysiinae y Microgastrinae) (Quicke, 1997).

Subfamilia Microgastrinae

Dentro de Braconidae, Microgastrinae es probablemente la subfamilia que posee mayor número de especies. Los microgastrinos son avispas pequeñas generalmente de color negro, que como característica morfológica cuentan con la presencia de 16 antenómeros, dos artejos antenales basales, y las alas exhiben una venación distal reducida, determinada por la ausencia de una celda costal (costa, subcosta y radio fusionados o en la mitad basal del ala anterior) (Austin & Dangerfield, 1992; ver Figura 1). Los microgastrinos son endoparasitoides, generalmente koinobiontes (Wharton, 1998). Los organismos agrupados en esta subfamilia miden de 1-3 mm, sin considerar el ovipositor, el cual varía dependiendo de la tribu, género o especie; además, presentan la fusión de los terguitos metasomales 2 y 3, poseen un trocántero (trocánter segmentando dos veces), y carecen de la vena 2m-cu en el ala anterior (Wharton, 1998). Su ciclo de vida consta de tres estadios, aunque la presencia del tercero es variable entre géneros (Austin & Dangerfield, 1992; Smith *et al.*, 2008).

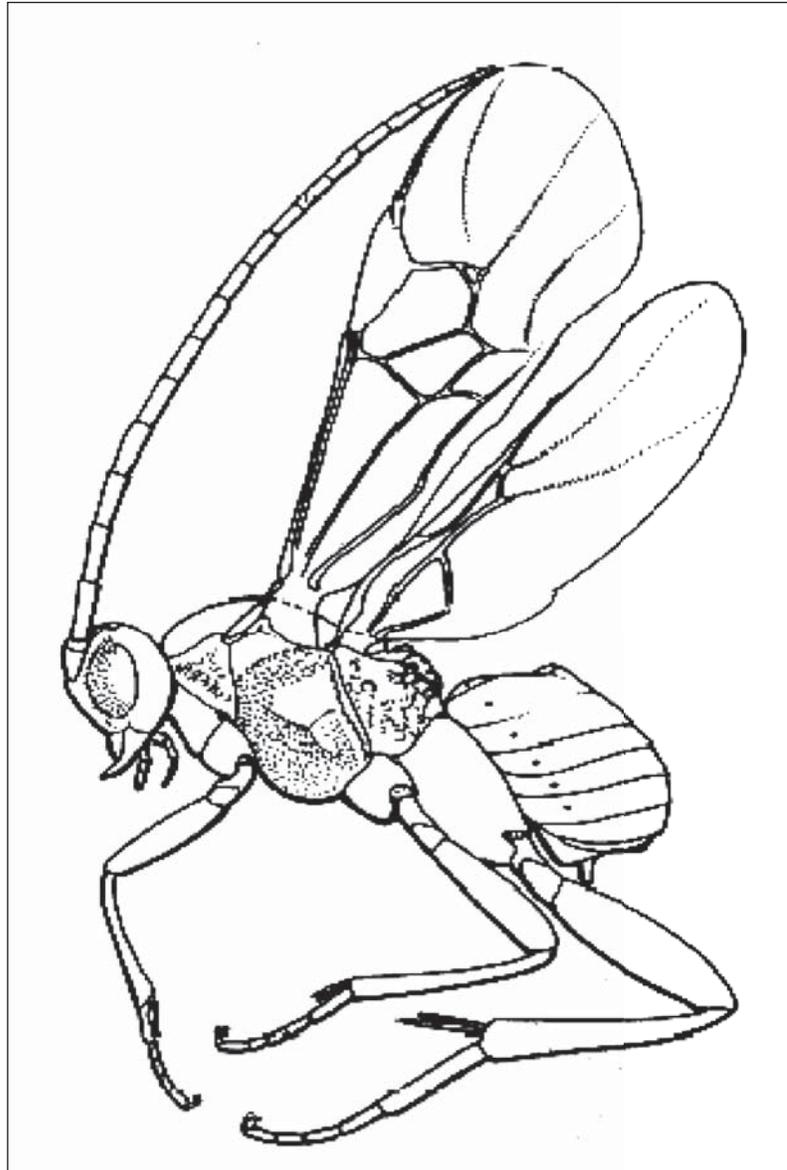
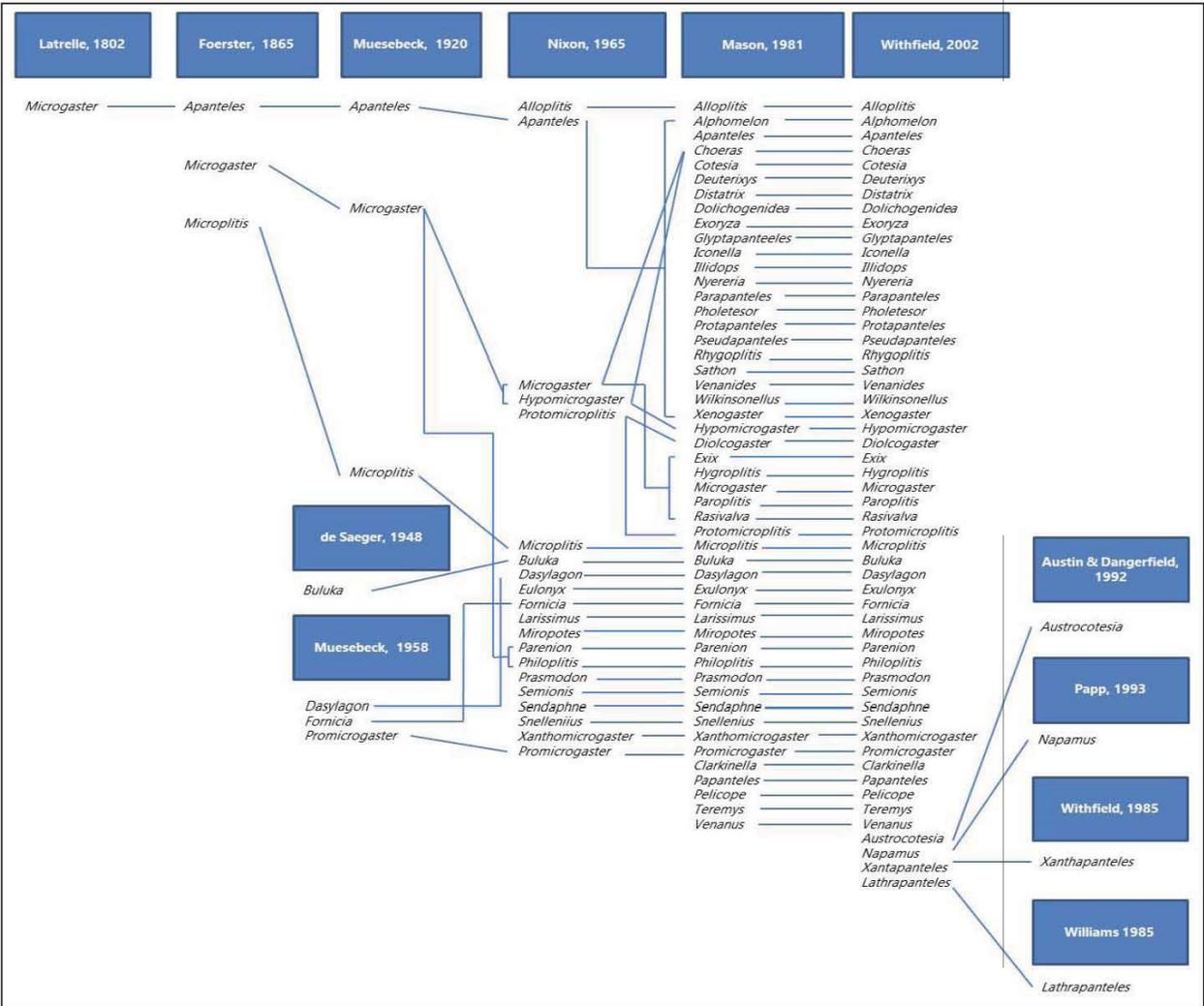


Figura 1. Esquema de la especie tipo de la subfamilia Microgastrinae correspondiente al género *Apanteles* Foerster. Tomado de Wharton *et al.*, 1998.

Actualmente, la subfamilia Microgastrinae cuenta con aproximadamente 2 000 especies descritas a nivel mundial (Yu *et al.*, 2012), aunque se estima que podrían haber de 5 000 a 10 000 especies sin describir (Walker *et al.*, 1990; Jones *et al.*, 2009). Ya que son endoparasitoides exclusivos de estadios juveniles de Lepidoptera, se ha estimado que al conocer la cantidad de especies de lepidópteros de una región se puede formular una aproximación del número de especies de microgastrinos, dividiendo entre 15 el número total de especies de lepidópteros (Fernández-Triana, comentario personal). Los miembros de Microlepidoptera son parasitados por especies solitarias, mientras que para Macrolepidoptera las especies de microgastrinos suelen ser gregarias (Austin & Dangerfield, 1992).

La historia de la clasificación de Microgastrinae (ver Cuadro 2) comienza con el reconocimiento de *Apanteles* Foerster como género tipo de la subfamilia (Mason, 1981); Reinhard (1880) estudia y clasifica la diversidad del continente europeo en tres grupos, que más tarde llegarían a cuatro. Marshall (1885) y Wilkinson (1932) agregaron un grupo para especies tropicales. Ashmead (1898) describió varios géneros nuevos y al término del siglo XIX publicó una clasificación actualizada. Nixon (1965) procuró esclarecer uno de los problemas que el grupo presentaba al reorganizar la posición de *Apanteles*, separándolo en 44 grupos, describió ocho géneros nuevos y recuperó tres que se encontraban en “desuso”. Mason (1981) tomó en consideración varios caracteres morfológicos (*v.gr.* pérdida de carina occipital, desesclerosamiento de venación apical y pérdida del estigma en el metasoma) y reconoció cinco tribus dentro de la subfamilia: Apantelini y Microgastrini (ovipositor largo, parasitoides de Microlepidoptera), y Forniciini, Cotesiini y Microplitini (ovipositor corto, parasitoides de Macrolepidoptera) (Mason, 1981).



Cuadro 2. Cambios en la clasificación de la subfamilia Microgasterinae. Modificada de Withfield et al., 2002.

La determinación a nivel de género (Ver cuadro 3) en esta subfamilia es difícil y suele estar restringida a la ayuda de un especialista, ya que es un grupo hiperdiverso y existen especies crípticas, lo que implica una serie de limitaciones en el estudio del grupo. Otra problemática es que *Apanteles* es un género amplio y polifilético (Mason, 1981; Nixon, 1965). Por otra parte, se ha subestimado la especificidad de huéspedes a los que los microgastrinos parasitan, tal y como lo ha revelado un estudio reciente empleando información molecular y de historia natural (Smith *et al.*, 2008).

Cuadro 3. Distribución mundial de los géneros de la subfamilia Microgastrinae, especies y órdenes a los que parasitan e información sobre su biología.

GÉNERO	DISTRIBUCIÓN (Regiones)	BIOLOGÍA
<i>Alphamelon</i>	Neártica, Neotropical.	Parasita especies de Hesperidae (Lepidoptera).
<i>Apanteles</i>	Neártica, Neotropical, Oriental, Australasia.	Parasita especies de Noctuidae, Notodontidae (Lepidoptera).
<i>Austrocotesia</i>	Australasia, América Central y del Sur.	Desconocida.
<i>Choeras</i>	Hemisferio Sur.	Solitario. Parasita especies de Microlepidoptera.
<i>Clarkinella</i>	Neotropical.	Desconocida.
<i>Cotesia</i>	Australasia, Neártica, Neotropical, Oriental.	Parasita a <i>Plutella xylostella</i> , <i>Spodoptera exigua</i> , <i>Trichoplusia ni</i> .
<i>Dasylogon</i>	Sudamérica	Parasita especies de Sesiidae y Thyrididae (Lepidoptera).
<i>Deuterixys</i>	Neotropical Neártica, Australasia, Oriental (excepto África).	Parasita a <i>Bucculatrix</i> , <i>Euthrix potatoria</i> , <i>Leucoma salicis</i> , <i>Leucoptera malifoliella</i> , <i>Macrothylacia rubi</i> , <i>Operophtera brumata</i> , <i>Stigmella anomalella</i> .
<i>Diolcogaster</i>	Australasia, Neártica, Neotropical.	Solitario/Gregario. Parasita especies de Macrolepidoptera.
<i>Distatrix</i>	Pantropical.	Solitario/Gregario. Parasita especies de Macrolepidoptera.
<i>Dolichogenidea</i>	Australasia, Neártica, Neotropical, Oriental.	Solitario/Gregario. Parasita especies de Macrolepidoptera y Microlepidoptera.
<i>Exis</i>	Neártica, Neotropical.	Parasita especies de Noctuidae (Lepidoptera).

<i>Exoryza</i>	Holártica, Oriental.	Parasita especies de Pyraloidea (Lepidoptera).
<i>Fornicia</i>	Pantropical.	Parasita a Limacodidae (Lepidoptera)
<i>Glyptapanteles</i>	Australasia, Neártica, Neotropical, Oriental.	Parasita especies de Pyraloidea (Lepidoptera).
<i>Hygroplitis</i>	Holártica.	Parasita a Pyraloidea (Lepidoptera).
<i>Hypomicrogaster</i>	Neártica, Neotropical, Oriental.	Solitario. Parasita especies de Microlepidoptera.
<i>Iconella</i>	Australasia, Neártica, Oriental.	Solitario. Parasita especies de Microlepidoptera.
<i>Illidops</i>	Holártica.	Parasita especies de Psychidae, Pyralidae, Scythrididae (Lepidoptera).
<i>Larissimus</i>	Neotropical.	Parasita especies de Arctiidae (Lepidoptera).
<i>Lathrapanteles</i>	Neártica.	Gregario. Parasita especies de Noctuidae.
<i>Microgaster</i>	Australasia, Neártica, Neotropical, Oriental.	Solitario. Parasita especies de Microlepidoptera y Macrolepidoptera.
<i>Microplitis</i>	Australasia, Neártica, Neotropical, Oriental.	Parasita especies de Noctuidae y Sphingidae (Lepidoptera).
<i>Papanteles</i>	Neotropical.	Desconocida.
<i>Parapanteles</i>	Neotropical y Australasia.	Parasita especies de Noctuidae y Notodontidae (Lepidoptera).
<i>Paroplitis</i>	Holártica, Oriental.	Desconocida.
<i>Pelicope</i>	Neártica	Parasita especies de <i>Mesepiola specca</i> .
<i>Pholetesor</i>	Holártica, Neotropical.	Solitario.
<i>Prasmodon</i>	Sudamérica.	Desconocida.
<i>Promicrogaster</i>	Neotropical.	Desconocida.
<i>Protapanteles</i>	Australasia, Neártica, Neotropical, Oriental.	Macrolepidoptera.
<i>Protomicroplitis</i>	Australasia, Neártica, Neotropical, Oriental.	Parasita especies de Noctuidae (Lepidoptera).

<i>Pseudapanteles</i>	Neártica, Neotropical. Neotropical.	Parasita a <i>Gelechia operculella</i> , <i>Keiferia lycopersicella</i> , <i>Lipomerinx pismatica</i> , <i>Phorimaea operculata</i> , <i>Scrobipalpula absoluta</i> , <i>Spoladea recurvalis</i> , <i>Symmetrischema capsica</i> , <i>Synanthedon scitula</i> , <i>Tildenia gudmannella</i> .
<i>Rasivalva</i>	Neártica, Neotropical, Oriental.	Solitario. Parasita especies de Geometridae, Noctuidae y Arctiidae (Lepidoptera).
<i>Rhygoplitis</i>	Neártica, Neotropical.	Parasita a <i>Desmia funeralis</i> , <i>Eoreuma loftini</i> , <i>Fissicrambus mutabilis</i> , <i>Hellula undalis</i> , <i>Tebenna carduiella</i> .
<i>Sathon</i>	Holártica. Neotropical. Australasia (provisionalmente).	Solitario/Gregario. Parasita especies de Microlepidoptera y Macrolepidoptera.
<i>Sendaphne</i>	Neotropical.	Desconocida.
<i>Snellenius</i>	Pantropical.	Gregario. Parasita especies de Noctuidae y Sphingidae (Lepidoptera).
<i>Venanides</i>	Pantropical.	Parasita especies de Pyraloidea y Tortricoidea (Lepidoptera).
<i>Venanus</i>	Neártica, Neotropical.	Solitario. Parasita especies de Microlepidoptera.
<i>Wilkinsonellus</i>	Pantropical.	Desconocida.
<i>Xanthomicrogaster</i>	Neotropical.	Desconocida.
<i>Xanthapanteles</i>	Sudamérica.	Desconocida.
<i>Xenogaster</i>	Sudamérica.	Desconocida.

Se sigue la información de Wharton (1998), Campos (2001) y Coronado-Blanco (2011) respecto a distribución y biología.

Las relaciones filogenéticas de Microgastrinae no solo han estado suscritas a problemáticas de índole morfológico. En un trabajo filogenético con evidencia molecular, los autores encontraron la presencia de ramas muy cortas en las topologías obtenidas, lo que posiblemente refleja la radiación acelerada que ha ocurrido en varios grupos de esta subfamilia (Banks & Withfield, 2006). El análisis que integra evidencia molecular y morfológica, brindó un mayor soporte a estas ramas, postulándose que dicha radiación se debe a la colonización de especies huéspedes nuevas (Banks & Withfield, 2006).

Los microgastrinos tienen una importancia económica y ecológica enorme al ser componentes esenciales en un gran número de cadenas tróficas, debido a sus hábitos generalistas y especialistas. Además, las especies de este grupo influyen en la dinámica y la estructura de los ecosistemas, pues parasitan lepidópteros, consumidores clave de tejido vegetal, varias de ellas plagas de cultivos de importancia económica; es aquí donde radica la relevancia de la identificación de especies crípticas, pues al integrar esta información con registros morfológicos y ecológicos se pueden establecer acciones de conservación y control biológico de plagas (Smith *et al.*, 2008). Ejemplo de esto es su introducción en Nueva Zelanda y Australia para combatir plagas que atacaban cultivos de manzana y papa, con la finalidad de controlar el tamaño de las poblaciones (Austin & Dangerfield, 1992), además podría emplearse en el combate de la plaga *Cactoblastis cactorum* por parte de *Apanteles opuntiarum* en Estados Unidos y México (Zimmerman *et al.*, 2000; Martínez *et al.*, 2012).

La subfamilia Microgastrinae en México

Los estudios de microgastrinos en México son muy escasos y se limitan a estudios generales sobre diversidad de entomofauna, siendo pocos los estudios referentes a braconidos. Para algunas especies o géneros presentes en el país se desconoce su distribución. En el Cuadro 4 se resume la información de la diversidad que a nivel nacional se ha obtenido de la subfamilia (Coronado-Blanco, 2011).

Cuadro 4. Especies de la subfamilia Microgastrinae en México y su distribución a nivel estatal (Coronado-Blanco, 2011).

GÉNERO	ESPECIES	ESTADOS
<i>Alphomelon</i>	<i>A. bromeliphile</i> , <i>A. disputabile</i> , <i>A. melanoscelis</i> <i>A. nanosom</i> , <i>A. talidicida</i> , <i>A. winniwertzae</i>	TAM, GTO, MOR, GRO, YUC, QR.
<i>Apanteles</i>	<i>A. albinervis</i> , <i>A. angaleti</i> , <i>A. deplanatus</i> , <i>A. diatraea</i> , <i>A. etiellae</i> , <i>A. megathymi</i> , <i>A.</i> <i>paranthrenidis</i> , <i>A. scutellaris</i>	BCS, SON, COAH, SIN, SLP, NL, TAM, NAY, JAL, MICH, GTO, EDOMEX, DF, MOR, PUE, HGO, VER, OAX, CHIS, TAB, YUC, QR.
<i>Cotesia</i>	<i>C. americana</i> , <i>C. electrae</i> , <i>C. flavipes</i> (introducida), <i>C. hyphantriae</i> , <i>C. kraussi</i> , <i>C.</i> <i>marginiventris</i> , <i>C. theclae</i>	BC, BCS, SON, CHIH, COAH, NL, TAM, SIN, DGO, ZAC, AGS, GTO, MICH, EDOMEX, DF, VER, MOR, GRO, PUE, OAX, CHIS, QR.
<i>Deuterixys</i>	<i>D. quercicola</i>	DGO, PUE.
<i>Diolcogaster</i>	<i>D. duris</i> , <i>D. lelaps</i>	TAM.
<i>Exis</i>	<i>E. mexicana</i>	SIN, DGO, TAM, CHIS.
<i>Hypomicrogaster</i>	-	TAM, SIN, DGO, SLP, VER, CHIS, YUC, QR.
<i>Microgaster</i>	<i>M. mexicana</i> , <i>M. nerione</i>	SON, TAM, GRO.
<i>Microplitis</i>	-	SON, NL, TAM, GTO, HGO, VER, EDOMEX, MOR, CHIS, YUC.
<i>Papanteles</i>	<i>P. peckorum</i>	-
<i>Promicrogaster</i>	<i>P. apareia</i> , <i>P. munda</i>	-
<i>Protapanteles</i>	<i>P. caffreyi</i> , <i>P. harrisinae</i> , <i>P. revert</i> , <i>P.</i> <i>laevidorsum</i> , <i>P. malthacae</i> , <i>P. militaris</i> , <i>P. teapae</i>	SON, NL, TAM, VER, GTO, EDOMEX, DF, MOR, OAX, CHIS, QR.
<i>Protomicroplitis</i>	<i>P. mediata</i>	TAM, VER, GTO, COL, EDOMEX, MOR, GRO, OAX, CHIS.
<i>Pseudapanteles</i>	<i>P. dignus</i>	SIN, NL, TAM, NAY, DF, OAX, CHIS, CAMP, YUC, QR.
<i>Rhygoplitis</i>	-	TAM.
<i>Sendaphne</i>	<i>S. sulmo</i>	-
<i>Xanthomicrogaster</i>	<i>X. seres</i>	-

-: No hay identificación a nivel especie o no se cuenta con la información sobre su distribución. AGS: Aguascalientes; BC: Baja California; BCS: Baja California Sur; CHIH: Chihuahua; CHIS: Chiapas; COAH: Coahuila; DF: Distrito Federal; DGO: Durango; EDOMEX: Estado de México; GTO: Guanajuato; GRO: Guerrero; HGO: Hidalgo; JAL: Jalisco; MICH: Michoacán; MOR: Morelos; NAY: Nayarit; NL: Nuevo León; OAX: Oaxaca; PUE: Puebla; QR: Quintana Roo; SIN: Sinaloa; SLP: San Luis Potosí; SON: Sonora; TAB: Tabasco; TAM: Tamaulipas; VER: Veracruz; YUC: Yucatán; ZAC: Zacatecas.

Con un total de 41 especies descritas de 17 géneros de Microgastrinae, la diversidad del grupo en el país se encuentra pobremente reflejada si se consideran los últimos estudios que, con criterios de taxonomía integral, duplican los números conocidos y estimados para áreas de conservación (Smith *et al.*, 2008). En México, los géneros con más registros de especies son: *Apanteles*, *Cotesia*, *Protapanteles* y *Alphomelon* (Deans *et al.*, 2003). Sin embargo, existe una gran problemática de determinaciones erróneas para el país, suscritos en Yu *et al.* (2005), en donde *Fornicia* Brullé e *Hygroplitis* Thomson no están representados por especie alguna en el país. Debido a ello, resulta urgente contar con especialistas para este grupo, quienes realicen estudios enfocados a aumentar el conocimiento taxonómico de este grupo de organismos.

Delimitación de especies

La delimitación de especies es fundamental en los estudios sistemáticos pues se busca responder preguntas evolutivas y biogeográficas. Establecer los límites de las especies -así como puntualizar en aquellos procesos evolutivos que les dan origen- ha cobrado mayor importancia en el campo de la biología por la pérdida de diversidad (Wiens, 2007). La problemática central se enfoca en el debate sobre el concepto de especie y sus atributos, lo que limita el avance que pueda tenerse en su delimitación (Sites & Marshall, 2003; De Queiroz, 2007; Wiens, 2007).

La unidad fundamental de los estudios sistemáticos, la especie, posee atributos según el concepto que se maneje (biológico, ecológico, evolutivo, filogenético) (Ver Cuadro 5) y repercutirá en la delimitación y el número de especies descritas, es decir, “qué son y cómo las reconocemos” (Wiens, 2007).

Cuadro 5. Conceptos principales de especie (Modificada De Queiroz, 2007).

CONCEPTO DE ESPECIE	DESCRIPCIÓN
Biológico	Grupo de organismos que pueden reproducirse y producir descendencia fértil pero están aislados reproductivamente de otros grupos
Ecológico	Organismos que comparten el mismo nicho
Evolutivo	Organismos con las mismas tendencias evolutivas y destino histórico
Fenético	Grupo con características fenotípicas similares, y cualidades observables y cuantificables
Genético	Grupo que comparte la capacidad de intercambiar información genética por medio de mecanismos reproductivos (sexuales o asexuales)

La delimitación de especies consiste en identificar grupos que “evolucionaron de manera separada de otros linajes” (De Queiroz, 2007).

La categorización de los atributos importantes en la delimitación de las especies ha llevado a la morfología a ser el criterio más utilizado en la clasificación de las mismas, con base en elementos cualitativos y cuantitativos; sin embargo, tiene como desventaja la plasticidad en caracteres fenotípicos pues la morfología no siempre permite la identificación de los organismos, mucho menos si se trata de especies crípticas (Hebert *et al.*, 2003). Los taxónomos, en estos casos particulares, integran la evidencia morfológica, molecular, conductual y de patrones geográficos para establecer las especies (Roe & Sperling, 2007).

Los enfoques integrales para la delimitación de especies permiten brindar una identificación más certera sobre la diversidad de los organismos (De Queiroz, 2007) pues no cabe duda que la especiación es producto de procesos de mutación, selección natural, deriva génica y migración a través del tiempo geológico; el resultado de la evolución puede observarse eventualmente, y si estos procesos llevan a especies nuevas habrá cambios inherentes en la información genética (De Queiroz, 2007).

Caracteres moleculares

El código genético refleja una serie de acontecimientos históricos y biológicos que se encuentran suscritos a la entidad taxonómica objeto de estudio, donde es importante considerar la tasa de cambio –entendido como mutaciones- y el material genético empleado - ADN nuclear o mitocondrial-, así como el flujo génico que puede desembocar en linajes con historias distintas (Doyle, 1997; Sites & Marshall, 2003). En análisis sistemáticos de índole molecular, a partir de la información contenida en el genoma de los organismos, se obtiene información filogenética al realizar hipótesis de homología en función de sustituciones nucleotídicas heredables, considerando el uso de genes ortólogos y la posición de los nucleótidos en relación con procesos evolutivos que divergieron de un ancestro común (Caujape-Castells *et al.*, 2003).

La aplicación de herramientas moleculares permite realizar reconstrucciones filogenéticas que, entre otras utilidades, son de suma importancia en la delimitación de especies y en la estimación objetiva del número de éstas (Doyle, 1997). Al realizar estudios cuyo fin es reconstruir las relaciones entre taxones que hayan divergido hace tiempo (p. ej. familias u órdenes), debe utilizarse un fragmento genético cuya tasa de sustitución sea lenta; sin embargo, cuando el análisis es dirigido a nivel especie o individuos de una población debe tenerse presente el uso de regiones genómicas con una tasa de sustitución nucleotídica alta, que refleje la variación de linajes que divergieron recientemente (Caujape-Castells *et al.*, 2003) y que brinden información relevante acerca de los procesos evolutivos que operan en las poblaciones al igual que en los caracteres morfológicos (Sites & Marshall, 2003).

La información molecular se utiliza desde hace más de 30 años para establecer filogenias; es ampliamente utilizada desde el desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) para estudios de la molécula de ADN de los organismos y la secuenciación de sus genomas (Kimmel & Axelrod, 2000). El método ha sido perfeccionado gracias al desarrollo de tecnologías nuevas y programas informáticos, lo que ha permitido la secuenciación completa de genomas mitocondriales y nucleares así como la generación de oligonucleótidos que han permitido reconstruir las relaciones evolutivas entre los organismos de manera más robusta.

La información presente en el código genético de los seres vivos permite establecer y delimitar especies (Knowles & Carstens, 2007). Las inferencias de la historia evolutiva de los organismos, mediante herramientas moleculares, son también una forma de revelar la diversidad existente (Wiens, 2007), permitiendo incorporar modelos de evolución, evaluar hipótesis filogenéticas e incluir el factor tiempo en las relaciones de ancestría-descendencia de los seres vivos (Simon *et al.*, 2006). La sistemática molecular no sustituye la examinación de los caracteres morfológicos, por lo que la integración de datos de distribución, comportamiento, el soporte y el análisis de filogenias moleculares y de aquellas realizadas con caracteres morfológicos permiten evidenciar discrepancias en la clasificación de las especies y la reevaluación de su posición taxonómica (Lamas, 2008).

El ADN mitocondrial está compuesto por alrededor de 16 500 bases nucleotídicas y, debido a que su herencia es materna y tiene una naturaleza no recombinante, es ampliamente aplicado en estudios filogenéticos. A comparación del ADN nuclear posee una tasa de evolución alta y es de secuenciación fácil, presenta niveles de variabilidad altos así como tiempos de coalescencia más rápidos, resultado del tamaño de las poblaciones, la carga haploide que posee el organismo y la herencia materna de elementos del genoma. El uso de genes nucleares no muestran procesos de especiación reciente, tal información si es brindada por los genes mitocondriales (Simon *et al.*, 2006).

El código de barras de la vida

El término *barcoding* o código de barras se refiere al empleo de un fragmento estandarizado de ADN mitocondrial, correspondiente al segmento terminal 5' del gen citocromo oxidasa subunidad 1 (CO1); por convención suele ser un fragmento de aproximadamente 650 pares de bases (Hajibabaei *et al.*, 2006). Este marcador se ha aplicado en el estudio de la diversidad, específicamente para el establecimiento de relaciones filogenéticas y delimitación de especies, en casi todos los grupos de animales (Hajibabaei *et al.*, 2006; Prudic *et al.*, 2008).

Este fragmento genético ha resuelto el 95% de las relaciones filogenéticas a nivel de especie (Hajibabaei *et al.*, 2006). Como ventajas del uso del código de barras podemos mencionar que: a) a pesar de la degradación del material genético en algunos especímenes, por ejemplo material de colecciones, la aplicación de PCR ha podido amplificar fragmentos más cortos e informativos de este gen (Hajibabaei *et al.*, 2006); b) permite detectar especies crípticas cuando la información morfológica no es suficiente (Smith *et al.*, 2008); c) refleja la variabilidad de la secuencia a nivel intra e interespecífico (Hajibabaei *et al.*, 2006), y d) al secuenciar el ADN del abdomen del parasitoide adulto se ha logrado obtener secuencias del huésped cuando el parasitoide se encontraba en estado larval (Rougerie *et al.*, 2011).

El código de barras ha sido ampliamente utilizado en casi todos los grupos de animales a excepción de Cnidaria, donde el porcentaje de divergencia en CO1 es de 94.1%. En vertebrados, donde el marcador molecular *citocromo b* es uno de los marcadores más usados, presenta una divergencia del 2% en especies cercanas (Hebert *et al.*, 2003). El código de barras permite construir una base de datos con la finalidad de integrar la información de los organismos y poder estudiar las especies y sus procesos evolutivos, dándole distintos enfoques (Hajibabaei *et al.*, 2006).

Dentro de la clase Insecta existen numerosas investigaciones que han utilizado el código de barras, varios de las cuales han permitido esclarecer los límites entre especies de grupos con morfología adivergente. En un ejemplo de este tipo de estudios, Smith *et al.*, trabajaron con el género *Belvosia* (Diptera: Tachinidae) del Área de Conservación Guanacaste en Costa Rica; se obtuvo información del código de barras de 20 morfoespecies y arrojó un total de 32 especies delimitadas con este tipo de evidencia, lo cual reveló que la mayoría de las especies de taquínidos eran especialistas y no generalistas como se pensaba en un principio (Smith *et al.*, 2006).

En Lepidoptera, los estudios de código de barras permiten discriminar especies cercanas al ser un grupo que presenta tasas de evolución molecular baja y una gran diversidad (Hebert *et al.*, 2003). Como ejemplo de ello se puede citar el trabajo de Prudic *et al.* (2008), quienes determinaron que *Adelpha bredowii* Butler (Lepidoptera: Nymphalidae), considerada un complejo de subespecies, en realidad se compone de tres: *A. eulalia* Doubleday, *A. bredowii* y *A. californica* Butler, las cuales difieren tanto en caracteres morfológicos como en su distribución, y poseen un grado considerable de divergencia genética.

Otro trabajo con Lepidoptera reveló diez especies crípticas agrupadas en principio con el nombre *Astrartes fulgurator* (Lepidoptera: Hesperidae), especie que originalmente se consideraba con distribución amplia en el continente americano (Hebert *et al.*, 2004). En este trabajo se evidenció que las especies discriminadas habitan en diferentes tipos de vegetación y climas, confirmándose que éstas en realidad representan un conjunto de entidades complejas que se distinguen en su morfología y se encuentran reproductivamente aisladas (Hebert *et al.*, 2004). Otro estudio relevante con códigos de barras en lepidópteros es el de Roe & Sperling (2007), quienes investigaron los límites entre especies dentro del género *Dyorictria* (Lepidoptera: Pyralidae). Los autores incluyeron información de la planta de alimentación larval, lo cual ayudó a confirmar la presencia de dos especies neárticas: *D. reniculleoides* Spruce Coneworm y *D. pseudotsugella* Munroe.

En Hymenoptera, las avispas parasitoides han sido objeto de estudios mediante el código de barras. Dentro de Braconidae, la subfamilia Doryctinae ha sido estudiada para investigar la riqueza de especies en la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, Jalisco, empleando el modelo de coalescencia GYMC para determinar MOTU's, donde obtuvieron un total de 185 especies asignadas a 20 géneros (Zaldívar-Riverón *et al.*, 2008 y 2010).

Con respecto a Microgastrinae, se investigó la riqueza de especies de seis géneros en el Área de Conservación Guanacaste, Costa Rica (Smith *et al.*, 2008), donde los autores revelaron la existencia de 331 especies de microgastrinos, a partir de una estimación morfológica previa de 171 morfoespecies; esto refleja la discrepancia existente en la delimitación de especies con ambos métodos (Smith *et al.*, 2008). Además, en este estudio se observó que las especies delimitadas con datos moleculares eran altamente específicas a su especie huésped, y no generalistas como se pensaba. Otro estudio integrador que empleó el locus del código de barras y datos morfológicos en Microgastrinae, determinó la existencia de ocho especies nuevas para Canadá y Estados Unidos (Fernández-Triana, 2010).

JUSTIFICACIÓN

Conocer la diversidad de microgastrinos de una región eleva el valor de conservación de áreas protegidas; esta información también permite su aplicación en agricultura (control de plagas), estudios de interacciones tróficas, estructura metapoblacional, mecanismos de determinación sexual (como es el caso de *Cotesia Cameron*), fisiología nutricional de insectos, endocrinología e inmunología (Whitfield *et al.*, 2006).

Discriminar especies mediante un criterio de taxonomía integral, en el que se estudie tanto la evidencia morfológica como molecular (el código de barras), permite acelerar de manera eficaz el descubrimiento de especies nuevas. En México se cuenta con muy poca información acerca de la subfamilia Microgastrinae, ya que actualmente este grupo solo está representado por 41 especies descritas, a pesar de su distribución en todo el territorio nacional.

Debido a la difícil tarea de recolectar y determinar especies de microgastrinos, así como a la carencia de especialistas en el país, es necesario ampliar el conocimiento del grupo e incrementar el número de ejemplares en colecciones biológicas, pues una de las limitaciones al trabajar con estos organismos es la ausencia de una colección de referencia. Por lo tanto, este trabajo representa una contribución importante en la representatividad de este grupo en la Colección Nacional de Insectos (CNIN) del Instituto de Biología de la UNAM, en la cual se depositaron todos los ejemplares examinados durante este estudio.

OBJETIVOS

General

Determinar la riqueza de especies de avispas parasitoides de la subfamilia Microgastrinae en la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, Jalisco, con base en evidencia de morfología externa e información molecular (secuencias de ADN del código de barras).

Particulares

Conocer el número de géneros y especies presentes en la región de estudio.

Evaluar el desempeño de dos métodos utilizados para la delimitación de especies a partir de secuencias de ADN mitocondrial pertenecientes al gen citocromo oxidasa c.

Comparar la riqueza de especies existente en la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, Jalisco, con aquellas evaluadas en otras regiones del continente americano.

En esta Reserva se han realizado diversos estudios sobre la diversidad de artrópodos y se cuenta con un registro de 1863 especies de Insecta. Hymenoptera es el tercer orden de insectos con mayor riqueza de especies conocidas en la Reserva, cuyos registros cuentan con 257 especies y 98 géneros agrupados en 10 familias (Pescador-Rubio *et al.*, 2002; Rodríguez-Palafox & Corona, 2002). Existen algunos registros de avispas parasitoides de la familia Braconidae (Cuevas-Reyes *et al.*, 2007; Zaldívar-Riverón *et al.*, 2010), pero ninguno hace referencia a la diversidad de microgastrinos.

Obtención de ejemplares

Los ejemplares de avispas de la subfamilia Microgastrinae fueron recolectados en la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, en localidades situadas dentro de la Estación de Biología, propiedad del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). En total se efectuaron ocho periodos de trabajo de campo, desde junio de 2009 hasta mayo de 2011, y en diferentes épocas del año para obtener mayor representatividad del grupo. Se establecieron 10 sitios de recolecta y se emplearon cuatro técnicas diferentes: redes de golpeo, trampas Malaise, trampas de luz y platos amarillos. Las coordenadas de cada sitio de muestreo se obtuvieron mediante la ayuda de un GPS. La recolecta de ejemplares se llevó a cabo en dos tipos de vegetación, bosque subtropical caducifolio y subcaducifolio. Cada periodo tuvo una duración de aproximadamente una semana; todo el material reunido se almacenó en etanol absoluto y, posteriormente, se guardó a -20°C hasta antes de procesarlo en el laboratorio.

El material se determinó en principio a nivel de familia y subfamilia, empleando la clave de Wharton *et al.* (1998). Los datos de recolecta y determinación de los ejemplares recolectados y la información generada se capturó en una base de datos, donde se indica el colector (A. Zaldívar, H. Clebsch., A. Polaszek, V. Salinas, M. García, V. De Jesús, S. Ceccarelli, A. Martínez Aquino), la fecha, número de periodo en el campo, el tipo de trampa, las condiciones ambientales, las coordenadas exactas y la localidad (Apéndice 1). Todos los ejemplares examinados en el presente estudio fueron depositados en la Colección Nacional de Insectos del Instituto de Biología, UNAM.

Trabajo de laboratorio

Para la secuenciación del fragmento de ADN mitocondrial, correspondiente al marcador molecular *citocromo oxidasa I* (aproximadamente 615-658 pares de bases), se removió una pata protorácica de cada uno de los ejemplares examinados

y se colocaron en placas especiales de 96 pozos con alcohol absoluto (30µl), para su posterior envío al Canadian Centre for DNA Barcoding, en la Universidad de Guelph, Ontario. Ahí se realizó el proceso de extracción, amplificación y secuenciación del material genético (Smith *et al.*, 2008), amplificando la secuencia de CO1 con los primers LepF1/LepR1 (Hebert *et al.*, 2004) o LCO1490/HCO2198 (Folmer *et al.*, 1994). Las muestras fueron secuenciadas en ambas direcciones, editadas con Sequencer versión 4.0.5 (Gene codes) y alineadas manualmente.

Se enviaron seis placas de lisis con un total muestras de tejido de 551 individuos. Las extracciones de ADN se realizaron empleando el kit Chelex™ al 5% (Biorad®) o el ZR Insect/tissue DNA Kit™ (Zymo research®). Las amplificaciones consistieron en un ciclo de desnaturalización inicial de 94°C por 3 min, seguido por 40 ciclos con una desnaturalización de 94° C por 1 min, una temperatura de anillamiento de 50° C por 1 min, y una temperatura de alineamiento de 72° C por 1 min; finalizando con un ciclo de 72° C por 10 minutos. Todos los productos de PCR fueron purificados con el kit Montage PCR (Milipore®).

A cada ejemplar se le asignó un código de museo (p.e. Micro-0000) y la información recabada en su recolecta, secuenciación y determinación, se encuentra disponible en la página del BOLD (www.barcodinglife.org). Luego de obtener la secuencia de cada ejemplar, los individuos fueron montados y depositados en la Colección Nacional de Insectos del Instituto de Biología, UNAM.

Las secuencias obtenidas en el presente trabajo fueron depositadas en la página web de *GenBank* (números de acceso de *GenBank* JN281535-986, KC755270-365) dentro del Proyecto “Microgastrinae from Chamela, Mexico” (MXBMC Project), en la base de datos Barcode of Life Data Systems. La mayoría de las secuencias generadas en este trabajo han sido liberadas y publicadas en Smith *et al.* (2013: *GenBank* accession nos JN281535-986).

Análisis de datos

Los microgastrinos fueron determinados inicialmente a nivel de morfoespecie, asignando una determinación genérica con la clave de Wharton (1998) para Braconidae del Nuevo Mundo y la clave de Microgastrinae de Mason (1981); cada ejemplar fue etiquetado con un código único (Micro 0000).

La delimitación de especies basada en el locus del código de barras fue explorada con dos enfoques distintos empleados frecuentemente para la determinación operacional de unidades taxonómicas (MOTUS) (Jones *et al.*,

2011). En la primera aproximación, se obtuvieron las distancias genéticas entre los organismos secuenciados mediante el uso del modelo de distancia de Kimura-2-parámetros (Kimura, 1980), que se visualizan en un dendograma obtenido por el método *Neighbor Joining*, considerando como especies diferentes a grupos de organismos que tuvieran entre ellos una distancia mínima de 2% (Smith *et al.*, 2008).

El segundo enfoque aplicado al análisis de las secuencias de microgastrinos fue el modelo general mixto de Yules y coalescencia (General Mixed Yule-coalescent (GYMC) model) (Pons *et al.*, 2006; Fontaneto *et al.*, 2007). El fundamento de este modelo es la discriminación de especies, considerando la probabilidad de eventos de coalescencia y especiación plasmados en los patrones de divergencia reflejados en un árbol ultramétrico (Pons *et al.*, 2006; Fontaneto *et al.*, 2007). El árbol ultramétrico con longitudes de rama a escala en tiempo relativo se reconstruyó con el programa BEAST 1.7.4 (Drummond *et al.*, 2012). Los parámetros empleados en este análisis fueron: un reloj lognormal relajado y el modelo de evolución GTR+T+I (Lanave *et al.*, 1984), el cual ha sido exitosamente utilizado en delimitación de taxones altamente diversos pero poco estudiados (Monaghan *et al.*, 2009; Ceccarelli *et al.*, 2012).

El análisis anterior se ejecutó con 10 millones de generaciones, descartando los primeros 5 000 árboles muestreados como *burn-in*. Con los árboles restantes se construyó un árbol ultramétrico de máxima probabilidad con el programa TreeAnnotator Versión 1.7.4 (parte del paquete BEAST mencionado anteriormente), tomando en cuenta solo una secuencia por haplotipo y descartando los duplicados, con el programa Collapse Versión 1.2 (Posada, 2004). El árbol resultante fue analizado en el programa SPLITS (disponible en <http://r-forge.r-project.org/projects/splits/>) para la delimitación de especies con el programa R Versión 2.10.1. (R core Development Team 2009).

RESULTADOS

Se obtuvieron 557 secuencias correspondientes al gen COI. De estas secuencias, tres pertenecen al género *Mirax* de Miracinae, que anteriormente había sido colocado dentro de Microgastrinae, y otras tres pertenecen a bracónidos no ciclóstomos; el resto pertenecen a microgastrinos obtenidos durante tres años de recolecta en la Estación de Biología de Chamela, Jalisco. Las 551 secuencias asignadas a especímenes de Microgastrinae corresponden a 238 haplotipos. En el Cuadro 6 se presenta una lista con los géneros determinados y el número de especies delimitadas, tanto con el criterio de 2% de distancia genética como con el método GYMC (Fernández-Flores *et al.*, 2013); algunos de los géneros no pudieron ser confirmados por la ausencia de ejemplares hembra. El árbol ultramétrico y dendograma reconstruido por ambos métodos se muestra en el Apéndice 2 y 3.

Cuadro 6. Número de especies y géneros de Microgastrinae presentes en la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, Jalisco, determinados por el criterio del 2% de distancia genética y GYMC (Fernández-Flores *et al.*, 2013).

GÉNERO CONFIRMADO	ESPECIES OBTENIDAS CON EL CRITERIO DE 2% DE DISTANCIA GENÉTICA	ESPECIES GYMC
<i>Apanteles</i> Foerster	26	27
<i>Cotesia</i> Cameron	3	4
<i>Diolcogaster</i> Ashmead	5	6
<i>Distatrix</i> Mason	2	2
<i>Dolichogenidea</i> Viereck	1	1
<i>Fornicia</i> Brullé	1	1
<i>Glyptapantes</i> Ashmead	2	5
<i>Microplitis</i> Foerster	3	4
<i>Parapanteles</i> Ashmead	1	1
<i>Pholetesor</i> Mason	1	1
<i>Promicrogaster</i> Brues & Richardson	2	2
<i>Pseudapanteles</i> Ashmead	6	6
ASIGNACIÓN GENÉRICA TENTATIVA		
<i>Apanteles</i> Foerster	16	18
<i>Cotesia</i> Cameron	1	1
<i>Dolichogenidea</i> Viereck	9	11
<i>Glyptapanteles</i> Ashmead	15	15
<i>Pseudapanteles</i> Ashmead	4	5
<i>Promicrogaster</i> Brues & Richardson	1	1
<i>Rhygoplitis</i> Mason	1	1
TOTAL	100	112

Las especies delimitadas por ambos métodos -basados en la secuencia de ADN mitocondrial- fueron congruentes con la identificación a morfoespecie. El método GYMC arrojó un total de 112 especies putativas, mientras que con el criterio de distancia corregida del 2%, se delimitaron 100 MOTUs; la diferencia se debe a que 10 de los MOTUs recuperados se dividieron en 22 especies por el enfoque de GYMC.

Estos casos involucran a dos MOTU's asignados a *Dolichogenidea* Viereck que fueron divididos en dos respectivamente, dando un total de 12 especies del género; tres MOTU's de *Apanteles* Foerster, fueron divididos en dos cada uno dando un total de seis especies que, en vez de sumar 42 especies, resultan en 45 especies totales para el género. Por otra parte, los siguientes géneros presentaron un MOTU que fue dividido en dos especies "GYMC": *Cotesia* Cameron, *Diolcogaster* Ashmead, *Microplitis* Foerster y *Pseudapanteles* Ashmead. Un MOTU asignado a *Glyptapanteles* Ashmead fue dividido en cuatro especies "GYMC".

Gracias a una inspección detallada de la morfología externa de las especies en las que difirieron ambos métodos, se encontraron diferencias consistentes entre las siguientes especies: *Cotesia* sp. Sff3a y Sff3b; *Apanteles* sp. Sff7a y Sff7b; *Pseudapanteles* sp. Sff4a y Sff4b (Proyecto MXBMC, BOLD), por lo tanto, 103 especies de microgastrinos pertenecientes a 13 géneros (Fig. 3) son confirmadas para la Reserva e la Biósfera Chamela-Cuixmala, Jalisco, con base en datos morfológicos y secuencias de ADN. Sin embargo, en las siete incongruencias restantes entre ambos métodos, no se observaron diferencias morfológicas externas que soportaran la delimitación de especies recuperada por el método GYMC.

Las claves para los géneros de Microgastrinae se basan principalmente en características de la hembra (Mason, 1981; Whitfield, 1997). En el presente estudio, 33 de las especies delimitadas estaban representadas únicamente por machos, por lo que la asignación a género no pudo confirmarse. Sin embargo, fue asignado un género tentativo basado en dichas claves, usando material comparativo y corriendo una búsqueda BLAST para corroborar esas determinaciones. La lista genérica de asignación para esas especies se encuentra incluida en el Cuadro 6.



Glyptapanteles sp. (Micro 0003)



Microplitis sp. (Micro0005)



Fornicia sp. (Micro 201)



Apanteles sp. (Micro 0213)

Figura 3. Fotografías de algunas especies representativas de cada género de Microgastrinae, presente en la Estación de Biología de Chamela, Jalisco (Fernández-Flores *et al.*, 2013).



Parapanteles sp. (Micro 0315)



Pseudapanteles sp. (Micro0255)



Distatrix sp. (Micro 0481)



Pholetesor sp. (Micro 0521)

Figura 3 (cont.). Fotografías de algunas especies representativas de cada género de Microgastrinae, presente en la Estación de Biología de Chamela, Jalisco (Fernández-Flores *et al.*, 2013).



Dolichogenidea sp. (Micro 0007)



Promicrogaster sp. (Micro 0201)



Xanthomicrogaster sp. (Micro 0232)



Cotesia sp. (Micro 405)

Figura 3 (cont.). Fotografías de algunas especies representativas de cada género de Microgastrinae, presente en la Estación de Biología de Chamela, Jalisco (Fernández-Flores *et al.*, 2013).

Este estudio provee registros nuevos para el territorio mexicano del género *Fornicia* Brullé, *Dolichogenidea* Viereck, *Distatrix* Mason, *Glyptapanteles* Ashmead y *Pholetesor* Mason, cuyas especies probablemente no hayan sido descritas. Uno de los resultados más destacados fue el descubrimiento de una especie nueva que pertenece al grupo "*Diolcogaster-basimacula*" (Zeng *et al.*, 2011; ver Fig. 4) caracterizado por exhibir los rasgos siguientes: una especie de caparazón formado en los tres primeros segmentos del metasoma (tergitos 1-3), la celda submarginal se encuentra cerrada distalmente y la areola que forma es muy pequeña, la vena r-m no se encuentra muy esclerosada y no presentan carina epicnemial (Zeng *et al.*, 2011). Este grupo de especies sólo se había registrado en regiones tropicales en Asia y África.



Figura 4. Especie nueva: *Diolcogaster* spp. (Grupo de especies "*Diolcogaster basimacula*").

De las 103 especies de microgastrinos delimitadas en este trabajo a partir de las 551 procesadas, se obtuvo la siguiente curva de acumulación (Fig.5).

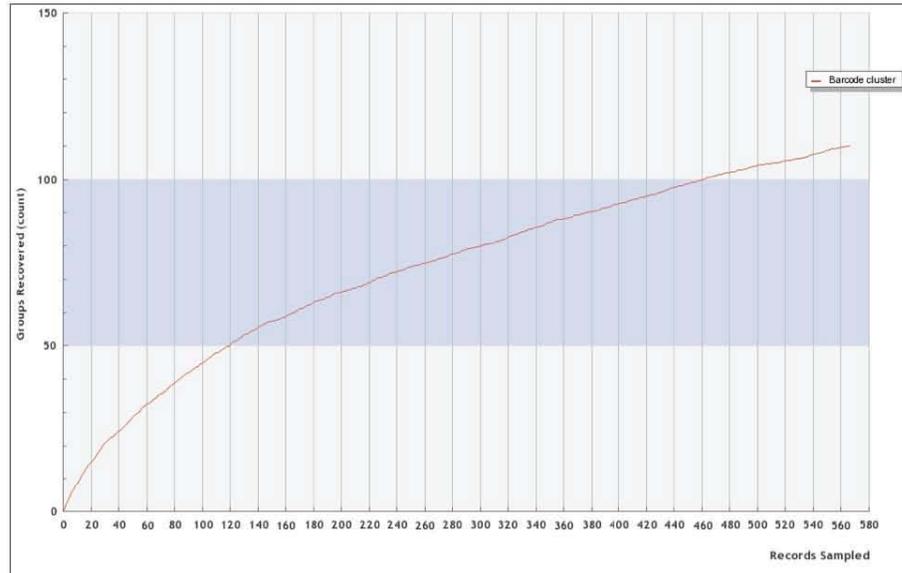


Figura 5. Curva de acumulación de especies de la subfamilia Microgastrinae en la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, Jalisco (No. Especies/ No. Especímenes secuenciados) obtenida a través del Sistema BOLD, tomando en cuenta las especies delimitadas por ambos métodos.

Una comparación entre las secuencias obtenidas en este estudio, y otras liberadas para México y otros 74 países (casi 20 000 secuencias en total), revelan que sólo cinco MOTUs presentes en Chamela son compartidos con otros países. Cuatro de estos MOTUS también ocurren en Costa Rica (*Apanteles* Rodríguez142, *Apanteles* Rodríguez200, *Apanteles* Rodríguez24 y *Glyptapanteles* Whitfield111, Smith *et al.*, 2008); estas especies fueron recolectadas en bosque seco tropical, aunque las últimas dos fueron también recolectadas en selva tropical. El otro MOTU se comparte con Canadá y Estados Unidos (*Apanteles samarshalli* Fernández-Triana; Fernández-Triana, 2010).

La presencia de especies crípticas dentro de la subfamilia Microgastrinae es uno de los grandes desafíos para el estudio del grupo, así como la carencia de descripciones detalladas que permitan diferenciar a los machos; siendo los mejores caracteres para su determinación: el patrón de colores y la diversidad de ovipositores (Deans *et al.*, 2003). No obstante con la ayuda del especialista, la

información molecular y la extensa base de datos disponible de microgastrinos, fue posible asignar denominaciones genéricas cuando los ejemplares no brindaron la suficiente información.

DISCUSIÓN

Comparación de riqueza de especies

Hasta la fecha, los registros de Microgastrinae en el territorio mexicano son escasos considerando la amplia diversidad descrita a nivel mundial, limitándose a 41 especies descritas (Coronado-Blanco, 2011). Si comparamos la riqueza de especies de microgastrinos obtenida en otros estudios, podremos apreciar mejor la magnitud de la diversidad por estudiar de esta subfamilia. Es necesario destacar la importancia de este tipo de trabajos, pues al abordar el tema de la delimitación y riqueza de especies de forma integral, resulta más fácil analizar la información existente y descifrar, o proponer, caracteres nuevos para la diagnosis de las especies conflictivas.

En la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, Jalisco, se han realizado estudios de riqueza de otras subfamilias de braconidos. Como es el caso de la subfamilia Rogadinae (Hymenoptera: Braconidae) que, con un esfuerzo de muestreo de casi tres años se obtuvieron 27 especies, revelando una diversidad menor a la reportada para otras subfamilias de la región (Aguilar-Velasco, 2013). Del mismo modo, la riqueza de las avispas de la subfamilia Doryctinae (Hymenoptera: Braconidae) fue evaluada empleando el código de barras de la vida, donde un estudio preliminar en el 2010 encontró 19 géneros y 185 especies (115 pertenecientes al género *Heterospilus*) con un esfuerzo de muestreo de tres salidas al campo (Ver Fig. 5) (Zaldívar-Riverón *et al.*, 2010).

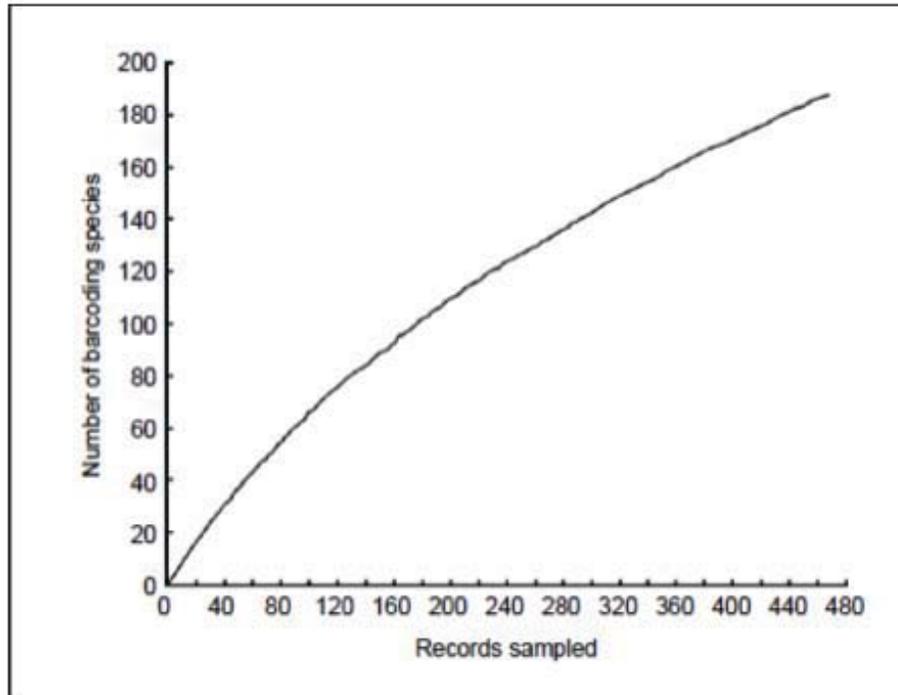


Figura 6. Curva de acumulación de especies de la subfamilia Doryctinae, obtenidas mediante el código de barras (Zaldívar-Riverón *et al.*, 2010).

En un segundo intento por ampliar el conocimiento sobre la subfamilia Doryctinae, con un esfuerzo de muestreo mucho más amplio (3 años), se encontraron 290 especies para la región representadas en 34 géneros (Gutiérrez-Arellano *et al.*, 2015). Aunque se incrementó en un 53% el número de registros para la región, se puede inferir que aún no se ha encontrado el número de especies totales de la región. Sin embargo resalta que el 58.8 % de las especies encontradas corresponden a un solo género (*Heterospilus* sp.).

El presente estudio, con un esfuerzo de muestreo similar al anterior, revela una riqueza de especies considerable de Microgastrinae (Fig. 5) y, ya que la curva de acumulación de especies no ha alcanzado una asíntota, podemos decir que el inventario de especies aún no está completo. Esto significa que la diversidad de microgastrinos ha pasado desapercibida, no sólo en la región sino en el país.

Una base de datos, como la del sistema BOLD, permite aumentar significativamente el conocimiento de la diversidad de taxones poco estudiados a nivel mundial. Como se puede observar en la Figura 7 la diversidad de especies de microgastrinos es mayor utilizando el código de barras, acelerando su determinación (Smith *et al.*, 2013).

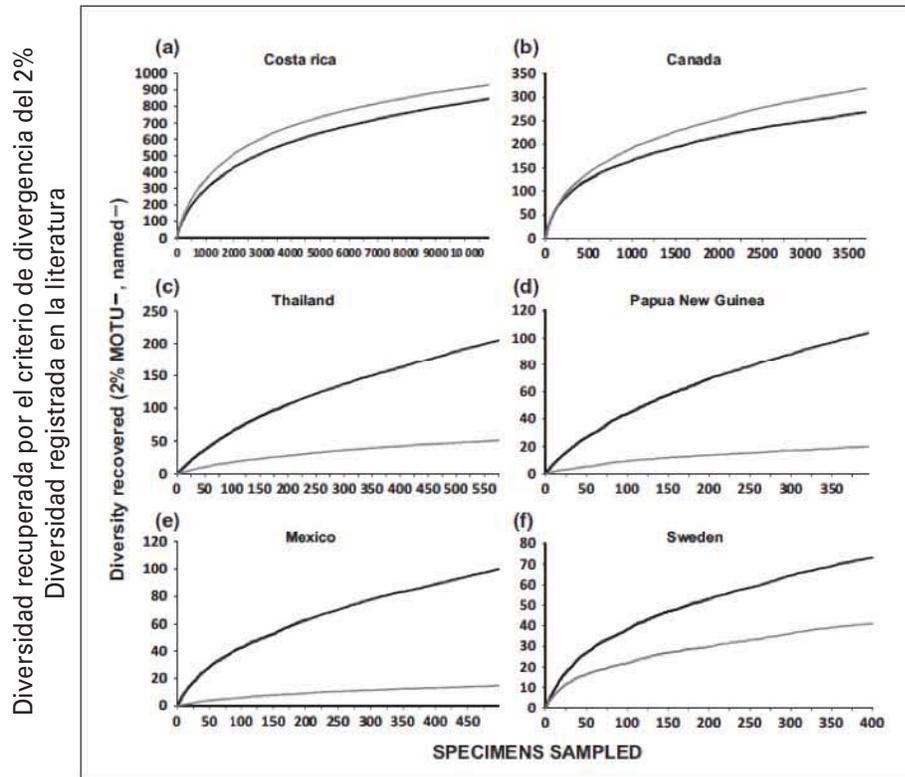


Figura 7. Curva de acumulación de la subfamilia Microgastrinae en diversos países. En negro, la diversidad obtenida mediante el código de barras; en gris la diversidad registrada en la literatura. Tomada de Smith *et al.*, 2013.

Los resultados obtenidos en el presente estudio complementan la información derivada de investigaciones en el Neotrópico (Costa Rica) y el Neártico (Estados Unidos y Canadá). En el caso del estudio en el Área de Conservación Guanacaste, Costa Rica, a cargo de Smith y su equipo (2008), se obtuvieron 171 morfoespecies preliminares de microgastrinos, a los que el análisis molecular adicionó 142 más, dando un total de 313 especies pertenecientes a seis géneros. En este caso se contaba con un esfuerzo de muestreo de 20 años y se tenía información de sus interacciones ecológicas, mientras que con un esfuerzo de tres años, en la región de Chamela, se obtuvo aproximadamente un tercio de este número.

Además, cabe destacar que se encontró una diversidad significativamente alta, y un alto registro de especies desconocidas con registros genéricos nuevos en el país; por lo tanto se logró aumentar sustancialmente el conocimiento taxonómico del grupo en México.

Perspectivas en el estudio de los microgastrinos

La importancia de estudiar la diversidad mediante técnicas moleculares, permite el descubrimiento de especies nuevas y el progreso en el conocimiento sobre taxones poco estudiados, aumentar los valores de conservación de zonas protegidas y esclarecer límites entre especies (Smith *et al.*, 2013). También es posible secuenciar el ADN contenido en el abdomen de las avispas para conocer de qué se alimenta, tanto en estados larvales como de adulto (Rougerie *et al.*, 2011; Aguilar-Velasco, 2013).

Para estudios futuros dentro de la subfamilia Microgastrinae es posible proponer énfasis en su recolecta en temporada de lluvias con red de golpeo y trampa Malaise debido a que fueron recolectados más especímenes cuando existían estas condiciones; sin descartar la temporada de secas y otros métodos de recolecta que permitan obtener datos representativos de la región de estudio.

Debido al número de secuencias y especies recopiladas por el sistema BOLD, sumado al esfuerzo por caracterizar su diversidad a nivel mundial, Microgastrinae probablemente represente la subfamilia más diversa de braconídeos (Smith *et al.*, 2013).

CONCLUSIONES

Se determinó la diversidad de especies de avispas parasitoides de la subfamilia Microgastrinae de la Reserva de Chamela, Jalisco, con base en la evidencia de morfología externa e información molecular.

Se obtuvo un total de 103 especies para la Reserva de la Biósfera de Chamela-Cuixmala, Jalisco.

Se delimitó un total de 100 especies mediante el criterio del 2% de divergencia y 112 con el método GYMC.

Se encontró discrepancia en diez de las MOTUs recuperadas. Sólo en el caso de *Cotesia* sp. Sff3a/Sff3b, *Apanteles* sp. Dff7a/Sff7b y *Pseudapanteles* sp. Sff4a/Sff4b, la morfología mostró diferencias consistentes, por lo que se recuperaron tres especies más.

Ambos métodos fueron consistentes con la identificación a nivel de morfoespecie de los microgastrinos. Las diez incongruencias que se presentaron pueden deberse a que dichas entidades se encuentran en un proceso de especiación que no ha llevado aún a una diferenciación fenotípica o a un porcentaje de divergencia genética del 2%.

Se obtuvieron cinco nuevos registros genéricos de Microgastrinae para el país (*Fornicia*, *Dolichogenidea*, *Distatrix*, *Glyptapanteles* y *Pholetesor*).

Se reconoció una especie nueva perteneciente al grupo de "*Diolcogaster basimacula*".

Es necesario proponer caracteres morfológicos a nivel de género, que permitan una determinación genérica de los ejemplares macho.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

Aguilar-Velasco, R.G. 2013. Diversidad de especies y asociación de parasitoidismo en las avispas de la subfamilia Rogadinae (Hymenoptera: Braconidae) de la Estación de Biología de Chamela, Jalisco. Tesis. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F., 67 pp.

Ashmead, W.H. 1898. Notes on parasitic Hymenoptera, with descriptions of some new species. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 4:155-171.

Austin, A. & Dangerfield, P. 1992. Synopsis of Australian Microgastrinae (Hymenoptera: Braconidae), with a Key to Genera and description of new taxa. *Invertebrates Taxonomy*, 6: 1-76.

Banks, J. & Withfield, J. 2006. Dissecting the ancient rapid radiation of microgastrine wasp genera using additional nuclear genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41: 690-703.

Brusca, R.C. & Brusca, G.J. 2005. Invertebrados. 2a. edición. McGraw Hill/ Interamericana de España, S. A. 1005 pp. (Traducción de la versión en inglés de 2003.)

Campos, F. 2001. Lista de géneros de avispas parasitoides Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) de la región neotropical. *Biota Colombiana*, 2: 193-232.

Caujape-Castells, J., Pedrola-Monfort, J. & Membrives, N. 2003. Aspectos filosóficos del análisis de datos en Sistemática Molecular. *Botanical Macaronesica*, 24: 127-141.

Ceccarelli, S., Shakey, M.J. & Zaldívar-Riverón, A. 2012. Species identification in the taxonomically neglected, highly diverse genus *Notiospathius* (Braconidae: Doryctinae) based on an integrative molecular and morphological approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62: 485-495.

Choate, P.M. 2006. Introduction to the Identification of Insects and Related Arthropods. Disponible en: http://www.entnemdept.ufl.edu/choate/insect_orders_06b.pdf. Fecha revisión: 21 Octubre 2015.

Coronado-Blanco, J.M. 2011. Braconidae (Hymenoptera) de Tamaulipas, México. Editorial Planeta, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 203 p.

- Coronado-Blanco, J.M. & Zaldívar-Riverón, A. 2014. Biodiversidad de Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85 (Suplemento): S372-S378. DOI: 10.7550/rmb.32000
- Cuevas, R., Quesada, M., Hanson, P. & Oyama, K. 2007. Interactions among three trophic levels and diversity of parasitoids: A case of top-down processes in Mexican tropical dry forest. *Environmental Entomology*, 36: 792-800.
- Deans, A., Whitfield, J. & Janzen, D. 2003. Taxonomy and natural history of the Microgastrinae genus *Alphomelon* Mason (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Hymenoptera Research*, 12: 1-41.
- De Queiroz, K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematics Biology*, 56: 879-886.
- Doyle, J. 1997. Trees within trees: Genes and species, molecules and morphology. *Systematics Biology*, 46: 537-553.
- Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D., Rambaut, A. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUTi and the BEAST 1.7.4 *Molecular Biology and Evolution*, 29: 1969-1973.
- Fernández-Flores, S., Fernández-Triana, J.L., Martínez, J.J. & Zaldívar-Riverón, A. 2013. DNA barcoding species inventory of Microgastrinae wasps (Hymenoptera: Braconidae) from a Mexican tropical dry forest. *Molecular Ecology Resources* 13(6): 1146-1150. DOI: 10.1111/1755-0998.12102
- Fernández-Triana, J.L. 2010. Eight new species and an annotated checklist of Microgastrinae (Hymenoptera: Braconidae) from Canada and Alaska. *Zookeys*, 63: 1-53.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology Biotechnology*, 3: 294-299.
- Fontaneto, D., Herniou, E.A., Boschetti, C., Caprioli, M., Melone, G., Ricci, C. & Barraclough, T.G. 2007. Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. *PloS Biology*, 5: 914-921.
- García, A. & Cabrera-Reyes, A. 2008. Estacionalidad y estructura de la vegetación en la comunidad de anfibios y reptiles de Chamela, Jalisco, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 24(3): 91-115.
- Grimaldi, D. 2003. "Fossil Record", pp. 455-463. En: Resh, V.H & Cardé, R. (eds.), *Encyclopedia of Insects*, Academic Press, New York.

- Gutiérrez-Arellano, D., Gutiérrez-Arellano, C. & Zaldívar-Riverón, A. 2015. DNA barcoding of the parasitoid wasp subfamily Doryctinae (Hymenoptera: Braconidae) from Chamela, México. *Biodiversity Data Journal* 3:e5109. DOI: 10.3897/BDJ.3.e5109
- Guzmán-Mendoza, R. 2010. Los insectos: antiguos constructores del mundo. *Elementos*, 79: 29-33.
- Hajibabaei, M., Smith, M., Janzen, D., Rodríguez, J., Whitfield, J. & Hebert, P. 2006. A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded. *Molecular Ecology Notes*, 6: 959-964.
- Hanson, P. & Gauld, I. 2006. Hymenoptera de la Región Neotropical. *The American Entomological Institute*, 77: 994.
- Hebert, P., Cywisnka, A., Ball, S. & Waard, J. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London*, 270: 313-321.
- Hebert, P., Ratnasingham, S., & deWaard, J.R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B*, 270(Supplement 1): 96-99.
- Hebert, P., Penton, E., Burns, J., Janzen, D. & Hallwachs, W. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101: 14812-14817.
- Jones, O.R., Purvis, A., Baumgart, E. & Quicke, D.L.J. 2009. Using taxonomic revision data to estimate the geographic and taxonomic distribution of undescribed species richness in the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *Insect Conservation and Diversity*, 2: 204-212.
- Jones, M., Ghoorah, A. & Blaxter, M. 2011. jMOTU and taxonator: turning DNA barcode sequences into annotated operational taxonomic units. *PloS ONE*, 6:e19259. DOI: 10.1371/journal.pone.0019259
- Kimmel, M. & Axelrod, D. 2002. Branching processes in biology. Springer-Verlag, New York.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16: 111-120.

- Knowles, L. & Carstens, B. 2007. Delimiting species without monophyletic gene trees. *Systematic Biology*, 56: 887-895.
- Lamas, G. 2008. "La sistemática sobre mariposas (Lepidoptera: Hesperoidea y Papilionoidea) en el mundo: estado actual y perspectivas futuras," pp. 57-70. En: Llorente-Bousquets, J. & A. Lanteri (eds.), *Contribuciones taxonómicas en órdenes de insectos hiperdiversos*, Las Prensas de Ciencias, UNAM, México, D.F.
- Lanave, C., Preparata, G., Sacoone, C. & Serio, G. 1984. A new method for calculating evolutionary substitution rates. *Journal of Molecular Evolution*, 20: 86-93.
- Marshall, T.A. 1885. Monograph of British Braconidae 1. *Royal Entomology Society of London*, 1885:1-280.
- Martínez, J.J., Berta, C., Varone, L., Logarzo, G.A., Zamudio, P., Zaldívar-Riverón, A. & Aguilar-Velasco, R.G. 2012. DNA barcodes and morphological identification of the southern South American species of *Apanteles* (Hymenoptera: Braconidae) parasitoids of cactus feeding moths (Lepidoptera: Pyralidae: Phycitinae). *Invertebrate Systematics*, 26: 435-444.
- Mason, W.R.M. 1981. The polyphyletic nature of *Apanteles* Foerster (Hymenoptera: Braconidae): A phylogeny and reclassification of Microgastrinae. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 115: 1-147.
- Monaghan, M., Wild, R. & Elliot, M. 2009. Accelerated species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delineation. *Systematics Biology*, 58: 298-311.
- Musacchio, H. 1999. Milenios de México. Raya en el Agua, México, volumen 2, 3359 pp.
- Nicholls, H. 2008. Darwin 200: let's make a mammoth. *Nature* 456 (7229): 310-314.
- Nielsen, C. 2012. Animal Evolution: Interrelationships of the Living Phyla: Interrelationships of the Living. 3a. ed., Oxford University, Oxford.
- Nixon, G.E.J. 1965. A reclassification of the Tribe Microgasterini (Hymenoptera: Braconidae). *Bulletin of the British Museum (Natural History) Entomology*, 2 (Supplement): 1-284.
- Noguera, F., García, J. & Quezada, M. 2002. Historia Natural de Chamela. Instituto de Biología, UNAM. México. 563 pp.

Pescador-Rubio, A., Rodríguez-Palafox, A. & Noguera, F. 2002. "Diversidad y estacionalidad de Arthropoda", pp.183-201. En: Noguera, F., Vega, J., García, A. & Quesada, M. (eds.), *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM. México.

Pons, J., Barraclough, T.G., Gómez-Zurita, J., Cardoso, A., Durán, D.P., Hazell, S., Kamoun, S., Sumlin, W.D. & Vogler, A.P. 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, 55: 595-609.

Posada, D. 2004. Collapse: Describing Haplotypes from Sequence Alignments. University of Vigo, España. Disponible en: <http://darwin.uvigo.es/software/collapse.html>

Prudic, K., Warren, A. & Llorente-Bousquets, J. 2008. Molecular and morphological evidence reveals three species within the California sister butterfly, *Adelpha bredowii* (Lepidoptera: Nymphallidae: Limenitidinae). *Zootaxa*, 1819: 1-24.

Quicke, D.J.L. 1997. "Subfamily Braconinae", pp. 149-174. En: Wharton, R.A., Marsh, P.M. & Sharkey, M.J. (eds.), *Manual of the New World genera of the family Braconidae (Hymenoptera)*, Special publication of the International Society of Hymenopterists, num. 1.

Reinhard, H. 1880. Beitrage zur Kenntniss einiger Braconiden-Gattungen. Funftes Stuck. XVI. Zur Gattung *Microgaster*, Latr. (*Microgaster*, *Microplitis*, *Apanteles*). *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, 24: 353-370.

Rodríguez-Palafox, A. & Corona, A.M. 2002. "Artrópodos de la región de Chamela, Jalisco, México", pp. 203-232. En: Noguera, F.A., Vega Rivera, J.H., García Aldrete, A.N. & Quesada Avendaño, M. *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM, México, D.F.

Roe, A. & Sperling, F. 2007. Population structure and species boundary delimitation of cryptic *Dyorictria* moths: an integrative approach. *Molecular Ecology*, 16: 3617-3633.

Rougerie, R., Smith, A., Fernández-Triana, J., Lopez-Vaamonde, C., Ratnasingham, S. & Hebert, P. 2011. Molecular analysis of parasitoid linkages (MAPL): gut contents of adult parasitoid wasp reveal larval host. *Molecular Ecology*, 20: 179-186.

Simon, C., Buckley, T., Frati, F., Stewart, J. & Beckenbach, A. 2006. Incorporating molecular evolution into phylogenetic analysis, and a new compilation of conserved polymerase chain reaction primers for animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 37: 545-579.

- Sites, J. & Marshall, J. 2003. Delimiting species: a Renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 18(9): 462-470.
- Smith, M., Woodley, N., Janzen, D., Hallwachs, W. & Hebert, P. 2006. DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(10): 3657-3662.
- Smith, M., Rodríguez, J., Withfield, J., Deans, A., Janzen, A., Hallwachs, W. & Hebert, P. 2008. Extreme diversity of tropical parasitoid wasps exposed by iterative integration of natural history, DNA barcoding, morphology, and collections. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(34): 12359-12364.
- Smith, M., Fernández-Triana, J., Eveleigh, E., Gómez, J., Guclu, C., Hallwachs, W., Hebert, P., Hrcek, J., Huber, J.T., Janzen, D., Mason, P.G., Miller, S., Quicke, D.L.J., Rodríguez, J.J., Rougerie, R., Shaw, M.R., Varkonyi, G., Ward, D., Whitfield, J.B. & Zaldívar-Riverón, A. 2013. DNA barcoding and the taxonomy of Microgastrinae wasps (Hymenoptera: Braconidae): impacts after 8 years and nearly 20 000 sequences. *Molecular Ecology Resources*, 13: 168-176.
- Walker, A.K., Kitching, J., Austin, A.D. 1990. A reassessment of the phylogenetic relationships within the Microgastrinae (Hymenoptera: Braconidae). *Cladistics*, 6: 291-306.
- Wharton, R., Marsh, P. & Sharkey, M. 1998. Manual para los géneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del nuevo mundo. *The International Society of Hymenopterists*, Washington, D.C. USA.
- Wiens, J. 2007. Species Delimitation: New Approaches for Discovering Diversity. *Systematic Biology*, 56(6): 875-878.
- Wilkinson, D.S. 1932. A revision of the Ethiopian species of the genus *Apanteles* (Hym. Bracon). *Transactions of the Entomological Society of London*, 80: 301-344.
- Whitfield, J.B. 1997. Microgastrinae. In: Wharton, R.A., Marsh, P.M., Sharkey, M.J. (eds). *Manual of the New World genera of the family Braconidae (Hymenoptera)*. International Society of Hymenopterists. The International Society of Hymenopterists, Washington, D.C.: 332-364.
- Whitfield, J.B., Mardulyn, P., Austin, A.D., Dowton, M. 2002. Phylogenetic relationships among the microgastrine braconid wasp genera based on data from the 16S, COI and 28S genes and morphology. *Systematic Entomology*, 27: 337-359.

Whitfield, J., Rodríguez, J. & Masonick, P. 2009. Reared microgastrinae wasps (Hymenoptera: Braconidae) from Yanayacu Biological Station and environs (Napo Province, Ecuador): Diversity and host especialization. *Journal of Insect Science*, 9: 31.

Yu, D.S.K., van Achterberg, C., Horstmann, K. 2005. World Ichneumonoidea 2004. Taxonomy, Biology, Morphology and Distribution. Disponible en: www.taxapad.com, Vancouver, Canadá.

Yu, D.S.K., van Achterberg, C. & Horstmann, K. 2012. Taxapad 2012, Ichneumonoidea 2011. Database on flash-drive. Disponible en: www.taxapad.com, Ottawa, Canadá.

Zaldívar-Riverón, A., Belokobylskij, S., León-Regagnon, V., Briseño, R. & Quicke, D. 2008. Molecular phylogeny and historical biogeography of the cosmopolitan parasitic wasp subfamily Dorictinae (Hymenoptera: Braconidae). *Invertebrate Systematics*, 22: 345-363.

Zaldívar-Riverón, A., Martínez, J., Ceccarelli, S., De Jesús-Bonilla, V., Rodríguez-Pérez, A., Reséndiz-Flores, A. & Smith, A. 2010. DNA barcoding a highly diverse group of parasitoid wasps (Braconidae: Doryctinae) from a Mexican nature reserve. *Mitochondrial DNA*, 21(Supplement 1): 18-23.

Zeng, J., He, J.H. & Chen, X.X. 2011. The genus *Diolcogaster* Ashmead, 1900 (Hymenoptera, Braconidae, Microgastrinae) from China. *ZooKeys*, 129: 49-87. DOI: 10.3897/zookeys.129.1201

Zhang, Z.Q. 2011. Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. *Zootaxa*, 3148: 1-237.

Zimmermann H. G., Moran, V.C. & Hoffmann, J.H. 2000. The renowned cactus moth, *Cactoblastis cactorum*: its natural history and threat to native *Opuntia* floras in Mexico and the United States of America. *Diversity and Distributions*, 6: 259-269.

APÉNDICES

APÉNDICE 1

Relación de localidades de recolecta para el presente estudio (número y código de recolecta, localidad, fecha, técnica, colectores).

Código recolecta (no. de salida)	Localidad	Fecha	Técnica	Colectores
CHAM-005B (1)	Bioestación Chamela, camino Búho-Chachalaca.	23 Junio 2009	Sweep	H. Clebsch, A. Zaldívar, A. Polaszek
CHAM-006A (1)	Bioestación Chamela, cerca laboratorio.	23-24 Junio 2009	Light trap	H. Clebsch, A. Zaldívar, A. Polaszek
CHAM-006B (1)	Bioestación Chamela, cerca laboratorio.	24-25 Junio 2009	Light trap	H. Clebsch, A. Zaldívar, A. Polaszek
CHAM-007C (1)	Bioestación Chamela, camino Chachalaca.	26-27 Junio 2009	YPT	H. Clebsch, A. Zaldívar, A. Polaszek
CHAM-008B (1)	Bioestación Chamela, camino Búho.	25-26 Junio 2009	Light trap	H. Clebsch, A. Zaldívar, A. Polaszek
CHAM-009 (1)	Bioestación Chamela, camino Chachalaca.	24 Junio 2009	Sweep	H. Clebsch, A. Zaldívar, A. Polaszek
CHAM-010 (1)	Bioestación Chamela, camino Chachalaca.	25 Junio 2009	Light trap	H. Clebsch, A. Zaldívar, A. Polaszek

CHAM-012 (1)	Bioestación Chamela, camino Chachalaca.	26-27 Junio 2009	Sweep	H. Clebsch, A. Zaldívar, A. Polaszek
CHAM17A (2)	Bioestación Chamela, camino Calandria.	03 Septiembre 2009	Sweep	H. Clebsch, A. Zaldívar
CHAM-18 (2)	Bioestación Chamela, camino Calandria.	03 Septiembre 2009	Sweep	H. Clebsch, A. Zaldívar
CHAM-19 (2)	Bioestación Chamela, camino Calandria/ camino Chachalaca.	04 Septiembre 2009	Sweep	H. Clebsch, A. Zaldívar
CHAM-20 (2)	Chamela, Fundación Cuixmala, Poza del Jaguar.	05 Septiembre 2009	Sweep	H. Clebsch, A. Zaldívar
CHAM-22 (2)	Bioestación Chamela, camino Chachalaca (Km 0).	06 Septiembre 2009	Sweep	H. Clebsch, A. Zaldívar
CHAM-23 (2)	Chamela, Fundación Cuixmala, El sendero.	07 Septiembre 2009	Sweep	H. Clebsch, A. Zaldívar
CHAM-25 (3)	Bioestación Chamela, (atrás de cocina).	18-19 Noviembre 2009	Light trap	A. Zaldívar

CHAM-26 (3)	Bioestación Chamela, Camino Antiguo.	22 Noviembre 2009	Sweep	A. Zaldívar
CHAM-27 (3)	Bioestación Chamela, camino Calandria.	19 Noviembre 2009	Sweep	A. Zaldívar
CHAM-28 (3)	Bioestación Chamela, camino Chachalaca.	1-21 Noviembre 2009	Malaise	A. Zaldívar
CHAM-32 (3)	Bioestación Chamela, camino Ardilla.	20 Noviembre 2009	Sweep	A. Zaldívar
CHAM-38 (4)	Bioestación Chamela, camino Búho-Chachalaca.	20 Febrero 2010	Sweep	A. Zaldívar
CHAM-39 (4)	Bioestación Chamela, camino Búho.	20 Febrero 2010	Malaise (20 Feb-28 Mar, 2010)	A. Zaldívar
CHAM-40 (4)	Bioestación Chamela, camino Chachalaca.	20 Febrero 2010	YPT	A. Zaldívar
CHAM-41 (4)	Bioestación Chamela, camino Chachalaca.	21 Febrero 2010	Sweep	A. Zaldívar
CHAM-42 (4)	Bioestación Chamela, camino Calandria.	20 Febrero 2010	Sweep	A. Zaldívar

CHAM-43 (4)	Bioestación Chamela, camino Calandria.	20 Febrero 2010	YPT	A. Zaldívar
CHAM-45 (4)	Bioestación Chamela, camino eje central/ Calandria.	21 Febrero 2010	Sweep	A. Zaldívar
CHAM-50 (4)	Bioestación Chamela, Calandria (arroyo).	23 Febrero 2010	Sweep	A. Zaldívar
CHAM-51 (4)	Bioestación Chamela, Calandria (mirador).	24 Febrero 2010	Sweep	A. Zaldívar
CHAM-52 (4)	Bioestación Chamela, cerca laboratorio.	25 Febrero 2010	Light trap	A. Zaldívar
CHAM-54 (4)	Bioestación Chamela, camino Búho/ Chachalaca.	25 Febrero 2010	Sweep	A. Zaldívar
CHAM 55 (5)	Bioestación Chamela, camino Chachalaca.	28 Marzo 2010	Sweep	A. Zaldívar-V. Salinas
CHAM-56 (5)	Bioestación Chamela, desviación Eje Central por vereda.	28 Marzo 2010	YPT	A. Zaldívar-V. Salinas

CHAM-57 (5)	Bioestación Chamela, camino Calandria.	28 Marzo 2010	Sweep	A. Zaldívar-V. Salinas
CHAM-58 (5)	Bioestación Chamela, camino Zarco-Chachalaca.	28 Marzo 2010	Sweep	A. Zaldívar-V. Salinas
CHAM-59 (5)	Bioestación Chamela, camino Calandria.	28 Marzo 2010	Sweep	A. Zaldívar-V. Salinas
CHAM-61 (6)	Bioestación Chamela, camino Chachalaca.	07 Agosto 2010	Sweep	A. Zaldívar-V. Salinas-Mario García-Vladimir De Jesús
CHAM-62 (6)	Bioestación Chamela, cerca laboratorio.	07 Agosto 2010	Light trap	A. Zaldívar-V. Salinas-Mario García-Vladimir De Jesús
CHAM-66 (6)	Bioestación Chamela, Camino Antiguo Norte.	09 Agosto 2010	Sweep	A. Zaldívar-V. Salinas-Mario García-Vladimir De Jesús
CHAM-67 (6)	Bioestación Chamela, cerca laboratorio.	09 Agosto 2010	Light trap	A. Zaldívar-V. Salinas-Mario García-Vladimir De Jesús
CHAM-68 (6)	Bioestación Chamela, 50 m del laboratorio.	9-10 Agosto 2010	Light trap	A. Zaldívar-V. Salinas-Mario García-Vladimir De Jesús
CHAM-69 (6)	Bioestación Chamela, Arroyo Zarco.	10 Agosto 2010	Sweep	A. Zaldívar-V. Salinas-Mario García-Vladimir De Jesús

CHAM-72 (6)	Bioestación Chamela, near lab	11-12 Agosto 2010	Light trap	A. Zaldívar-V. Salinas-Mario García-Vladimir De Jesús
CHAM-73 (7)	Bioestación Chamela, desviación Eje Central, entre 800 y 100 m.	28 Septiembre 2010	Sweep	Sara Ceccarelli, Álvaro Martínez-Aquino
CHAM-74 (7)	Bioestación Chamela, Chachalaca 0m a Camino Antiquo Sur.	29 Septiembre 2010	Sweep	Sara Ceccarelli, Álvaro Martínez-Aquino
CHAM-76 (7)	Bioestación Chamela, cerca laboratorio.	30 Septiembre 2010	Light trap	Sara Ceccarelli, Álvaro Martínez-Aquino
CHAM-78 (7)	Bioestación Chamela, Camino Antiquo Sur.	31 Septiembre 2010	Sweep	Sara Ceccarelli, Álvaro Martínez-Aquino
CHAM-84 (8)	Bioestación Chamela, cerca laboratorio.	05 Mayo 2011	Light trap	Alejandro Zaldívar-Riverón, Santiago Zaragoza-Caballero, Adolfo Ibarra

APÉNDICE 2

Dendograma obtenido mediante el criterio del 2% de distancia genética correspondiente a las especies de la subfamilia Microgastrinae de la Estación de Biología de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala Chamela, Jalisco.

